

22/02
537PA 00/049511
FA 00/002313

9

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

RECD 13 OCT 2000

WIPO

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 21 SEP. 2000

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Martine PLANCHE".

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)

Martine PLANCHE

SIEGE
INSTITUT
NATIONAL DE
LA PROPRIETE
INDUSTRIELLE

26 bis, rue de Saint Petersbourg
75800 PARIS Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04
Télécopie : 01 42 93 59 30



• 26 bis. rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 93 59 30

Reservé à l'INPI

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

Confirmation d'un dépôt par télécopie

Cet imprimé est à remplir à l'encre noire en lettres capitales

DATE DE REMISE DES PIÈCES 13 AOUT 1999		1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE CABINET LAVOIX 2 Place d'Estienne d'Orves 75441 PARIS CEDEX 09	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL 9910493		n° du pouvoir permanent références du correspondant téléphone BFF 99/0393 53-20-14-20	
DÉPARTEMENT DE DÉPÔT 75 INPI PARIS		date	
DATE DE DÉPÔT 13 AOUT 1999			
<p>2 DEMANDE Nature du titre de propriété industrielle</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> brevet d'invention <input type="checkbox"/> demande divisionnaire</p> <p><input type="checkbox"/> certificat d'utilité <input type="checkbox"/> transformation d'une demande de brevet européen</p> <p style="text-align: center;">▼ demander initiale ▼ brevet d'invention</p> <p><input type="checkbox"/> différencié <input checked="" type="checkbox"/> immédiat</p> <p>Le demandeur, personne physique, requiert le paiement échelonné de la redevance <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non</p> <p>Titre de l'invention (200 caractères maximum)</p> <p>Dérivés de phénanthroline-7-ones et leurs applications en thérapeutique.</p>			
<p>3 DEMANDEUR (S) n° SIREN</p> <p>Nom et prénoms (souligner le nom patronymique) ou dénomination</p> <p>LABORATOIRE L. LAFON</p> <p>code APE-NAF</p> <p>Forme juridique</p>			
<p>Nationalité (s) Française</p> <p>Adresse (s) complète (s)</p> <p>19, Avenue du Professeur Cadiot 94701 MAISONS ALFORT</p> <p>Pays FR</p>			
<p>En cas d'insuffisance de place, poursuivre sur papier libre</p> <p>4 INVENTEUR (S) Les inventeurs sont les demandeurs <input type="checkbox"/> oui <input checked="" type="checkbox"/> non Si la réponse est non, fournir une désignation séparée</p> <p>5 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES <input type="checkbox"/> requise pour la 1ère fois <input type="checkbox"/> requise antérieurement au dépôt : joindre copie de la décision d'admission</p> <p>6 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE</p> <p>pays d'origine numéro date de dépôt nature de la demande</p>			
<p>7 DIMSIONS antérieures à la présente demande n° date n° date</p>			
<p>8 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (nom et qualité du signataire) CABINET LAVOIX M. MONCHERY n° 92.1179 A. Monchery</p>		<p>SIGNATURE DU PRÉPOSÉ À LA RÉCEPTION</p> 	
<p>SIGNATURE APRÈS ENREGISTREMENT DE LA DEMANDE À L'INPI</p>			

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

cerj

N° 11235*02

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1 / 2.

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 260899

Vos références pour ce dossier (facultatif)	BFF 99/0393	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	99 10493	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
Dérivés de phénanthroline-7-ones et leurs applications en thérapeutique.		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
LABORATOIRE L. LAFON		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).		
Nom		DELFOURNE Evelyne
Prénoms		
Adresse	Rue	4, impasse du Liège 66450 POLLESTRES FRANCE
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
Nom		DARRO Francis
Prénoms		
Adresse	Rue	Avenue V. Olivier Bâtiment 8A, Boîte 60
	Code postal et ville	1070 BRUXELLES BELGIQUE
Société d'appartenance (facultatif)		
Nom		BASTIDE Jean
Prénoms		
Adresse	Rue	20, rue Antoine Carbo 66000 PERPIGNAN FRANCE
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Paris, le 16 Août 2000 C. JACOBSON n° 92.1119

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08
Téléphone : 01 53 04 53 04 Télécopie : 01 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2 / .2

(Si le demandeur n'est pas l'inventeur ou l'unique inventeur)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W /260899

Vos références pour ce dossier <i>(facultatif)</i>	BFF 99/0393	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	99 10493	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
Dérivés de phénanthroline-7-ones et leurs applications en thérapeutique.		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
LABORATOIRE L. LAFON		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) : (Indiquez en haut à droite «Page N° 1/1» S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez un formulaire identique et numérotez chaque page en indiquant le nombre total de pages).		
Nom		KISS Robert
Prénoms		
Adresse	Rue	4, Cour au Bois 1440 WAUTHIER-BRAINE BELGIQUE
	Code postal et ville	
Société d'appartenance <i>(facultatif)</i>		
Nom		FRYDMAN Armand
Prénoms		
Adresse	Rue	10, allée des Fusains 91370 VERRIERES LE BUISSON FRANCE
	Code postal et ville	
Société d'appartenance <i>(facultatif)</i>		
Nom		
Prénoms		
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance <i>(facultatif)</i>		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		Paris, le 16 Août 2000 C. JACOBSON n° 92.1119

DOCUMENT COMPORTANT DES MODIFICATIONS

PAGE(S) DE LA DESCRIPTION OU DES REVENDICATIONS OU PLANCHE(S) DE DESSIN			R.M.*	DATE DE LA CORRESPONDANCE	TAMON DATEUR DU CORRECTEUR
Modifiée(s)	Supprimée(s)	Ajoutée(s)			
27					
29, 30			X	22 oct 99	AMH 27 OCT. 1999

Un changement apporté à la rédaction des revendications d'origine, sauf si celui-ci découle des dispositions de l'article R.612-36 du code de la Propriété Intellectuelle, est signalé par la mention «R.M.» (revendications modifiées).

La présente invention concerne des compositions pharmaceutiques à base de composés polyaromatiques utiles notamment comme médicaments antitumoraux.

En 1999, les traitements cytotoxiques (chimiothérapie) utilisés pour réduire la taille des tumeurs cancéreuses, contenir le développement du processus tumoral voire, dans 5 trop peu de cas encore, supprimer les amas de cellules cancéreuses et le risque de métastases, combinent des substances chimiques d'introduction récente avec d'autres qui sont utilisées depuis quelques dizaines d'années. Par exemple, au 5-fluorouracil (5-FU), reconnu depuis près de 40 ans comme l'un des traitements les plus actifs du cancer colo-rectal, peut être substitué l'un ou l'autre des inhibiteurs spécifiques de la 10 topoisomérase I (irinotécan ou topotécan) lorsque la tumeur n'est plus sensible au 5-FU. Plus généralement, l'arsenal thérapeutique disponible pour traiter les tumeurs colo-rectales va également s'enrichir avec la mise à disposition de l'oxaliplatine, des nouveaux "donneurs" *in situ* de 5-FU ou des inhibiteurs sélectifs de la thymidylate synthétase. Cette co-existence ne se limite pas au traitement des cancers colo-rectaux 15 puisque, également, la chimiothérapie des cancers du sein, de l'ovaire, du poumon fait maintenant largement appel à la famille des dérivés des taxanes (paclitaxel, docetaxel). Le besoin de traitements plus efficaces et mieux tolérés, améliorant ainsi la survie et la qualité de vie des malades est impérieux puisque, en prenant toujours l'exemple des tumeurs colo-rectales, il a été estimé (S.L. Parker, T. Tong, S. Bolden *et al.*, CA Cancer 20 J. Clin., 1997) que, rien qu'aux Etats-Unis plus de 131 000 nouveaux cas ont été diagnostiqués en 1997, dont 54 000 étaient responsables du décès des patients. C'est la connaissance de cette situation qui a incité les inventeurs à s'intéresser à une famille de 25 composés polyaromatiques encore peu étudiés, identifiés chez des Ascidies de mers chaudes, pour développer une chimie médicinale originale destinée à sélectionner des composés synthétiques issus d'un travail de conception/modulation chimique et doués d'une activité cytotoxique significative au plan thérapeutique.

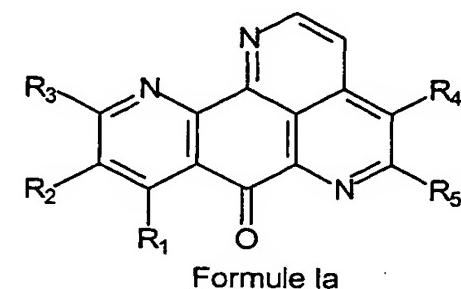
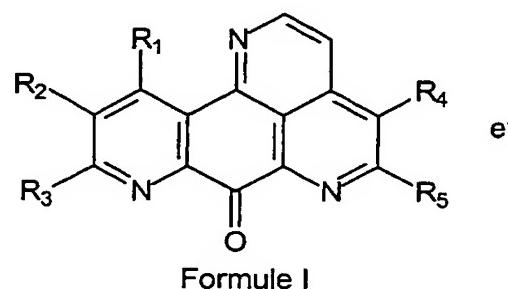
Les mers et les océans qui couvrent plus de 70 % de la surface du globe, hébergent des plantes marines et des éponges dont l'étude pharmacognosique systématique progressive montre que ces espèces vivantes peuvent contenir des alcaloïdes 30 complexes présentant des propriétés pharmacologiques intéressantes. Par exemple, les éponges *Cryptotheca crypta* et *Halichondria okadai* font l'objet d'études approfondies depuis la découverte de la présence, dans leurs cellules, de cytarabine ou d'halichondrine B. Il en est de même pour la famille des tuniciers, depuis l'isolement de l'aplidine du tunicier *Aplidium albicans* qui vit dans les îles Baléares (Espagne). Des 35 alcaloïdes à structure tétrahydroisoquinolone ont été isolés de l'ascidie *Ecteinascidia*

- turbinata*. Parmi ceux-ci, l'ecteinascidin-743 fait l'objet de travaux pré-cliniques approfondis (E. Igbicka et al., NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 130 p.34), ainsi que d'essais cliniques destinés à définir son potentiel thérapeutique comme médicament anticancéreux (A. Bowman et al., NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 452 p.118 ; 5 M.Villanova-Calero et al., NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 453 p.118 ; M.J.X. Hillebrand et al., NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 455 p.119; E. Citkovic et al., NCI-EORTC symposium, 1998; Abst. 456 p.119). De nouveaux dérivés d'acridines pentacycliques font également l'objet de travaux de pharmaco-chimie (D.J. Hagan et al., J. Chem. Soc., Perkin Transf., 1997; 1: 2739-2746).
- 10 Autre alcaloïde naturel d'origine marine, l'ascididémine a été extraite du tunicier *Didemnum sp.* (J. Kobayashi et al., Tehahedron, lett. 1988 ; 29 : 1177-80) et de l'ascidie *Cystodytes dellechiajei* (I. Bonnard et al, Anti-cancer Drug design 1995 ; 10 : 333-46). L'ascididémine possède des propriétés antiprolifératives mises en évidence sur le modèle de leucémie murine (lignées P388 ou L1210) et décrites par F.J. Schmitz et al. 15 (J. Org. Chem. 1991 ; 56 : 804-8), B. Lindsay et al. (Bioorg. Med. Chem. Lett. 1995 ; 5 : 739-42) et J. Kobayashi et al. (Tehahedron lett. 1988 ; 29 : 1177-80), et sur le modèle de leucémie humaine telles que décrites par I. Bonnard et al. (Anti-cancer Drug design 1995 ; 10 : 333-46). On peut également citer la 2-bromoleptoclinidone isolée de l'ascidie *Leptoclinides sp.* par S.J. Bloor et al. (J. Ann. Chem. Soc. 1987 ; 109 : 6134-6) et 20 synthétisée par F. Bracher et al. (Hétérocycles 1989 ; 29 : 2093-95) puis par M.E. Jung et al. (Hétérocycles 1994 ; 39 ; 2 : 767-778). La 2-bromoleptoclinidone présente une cytoxicité sur le modèle cellulaire de leucémie avec une ED 50 de 0,4 µg/ml. Les propriétés cytotoxiques ont été confirmées, par F. Bracher (Pharmazie 1997 ; 52 : 57-60) aussi bien *in vitro* - sur soixante lignées cellulaires tumorales en culture - que *in vivo* 25 sur les modèles de xénogreffes de lignées cellulaires tumorales humaines (tumeurs du colon SW-620 et HTC116, tumeur rénale A498 et mélanome LOX IM VI) implantées chez des souris.
- D'autres composés dérivés de l'ascididémine tels que la 11-hydroxy ascididémine, la 11-méthoxy ascididémine, les 11-phényle et 11-nitrophényle ascididémines, les 1-nitro 30 et 3-nitro ascididémines et la néocalliaactine ont été décrits au plan chimique par différentes équipes telles que celles de F.J. Schmitz (J. Org. Chem. 1991 ; 56 : 804-8) et de Y. Kitahara et al. (Heterocycles 1993 ; 36 : 943-46 ; Tetrahedron Lett. 1997 ; 53, 17029-38), G. Gellerman et al. (Tetrahedron lett. 1993 ; 34 : 1827-30), S. Nakahara et al (Heterocycles 1993; 36 : 1139-44), I. Spector et al. (US Patent Number : 5,432,172, 35 Jul. 11, 1995).

La méridine, est un autre alcaloïde naturel extrait de l'ascidie *Amphicarpa meridiana* ou de l'éponge marine *Corticium sp.* La méridine a été isolée par F.J. Schmitz et al. (J. Org. Chem. 1991; 56: 804 - 808) puis décrite pour ses propriétés antiprolifératives sur modèle de leucémie murine (P388) et antifongiques dans le brevet US A5 182 287 (Gunawardana et al. du 23 Janvier 1993). Ses propriétés cytotoxiques sur deux lignées cellulaires humaines: cellules de cancer du colon (HT-29) et carcinome du poumon (A549) ont été rapportées par R.E. Longley et al. (J. of Nat. Products 1993; 56: 915-920).

Parmi ces composés, on peut citer également la cystodamine, alcaloïde pentacyclique isolé de l'ascidie *Cystodytes dellechiajei* par N. Bontemps et al. (Tetrahedron lett., 1994; 35 : 7023-7026) qui présente une activité cytotoxique sur des lymphoblastes de leucémie humaine.

15 La présente invention a pour objet des composés de formule générale (I) et (Ia) :



dans lesquelles

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -CHO, -OR, -COOH, -CN, -CO₂R, -CONHR, -CONRR', -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, morpholino, nitro, SO₃H et



R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆ et Ar étant un groupe aryle en C₆-C₁₄,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

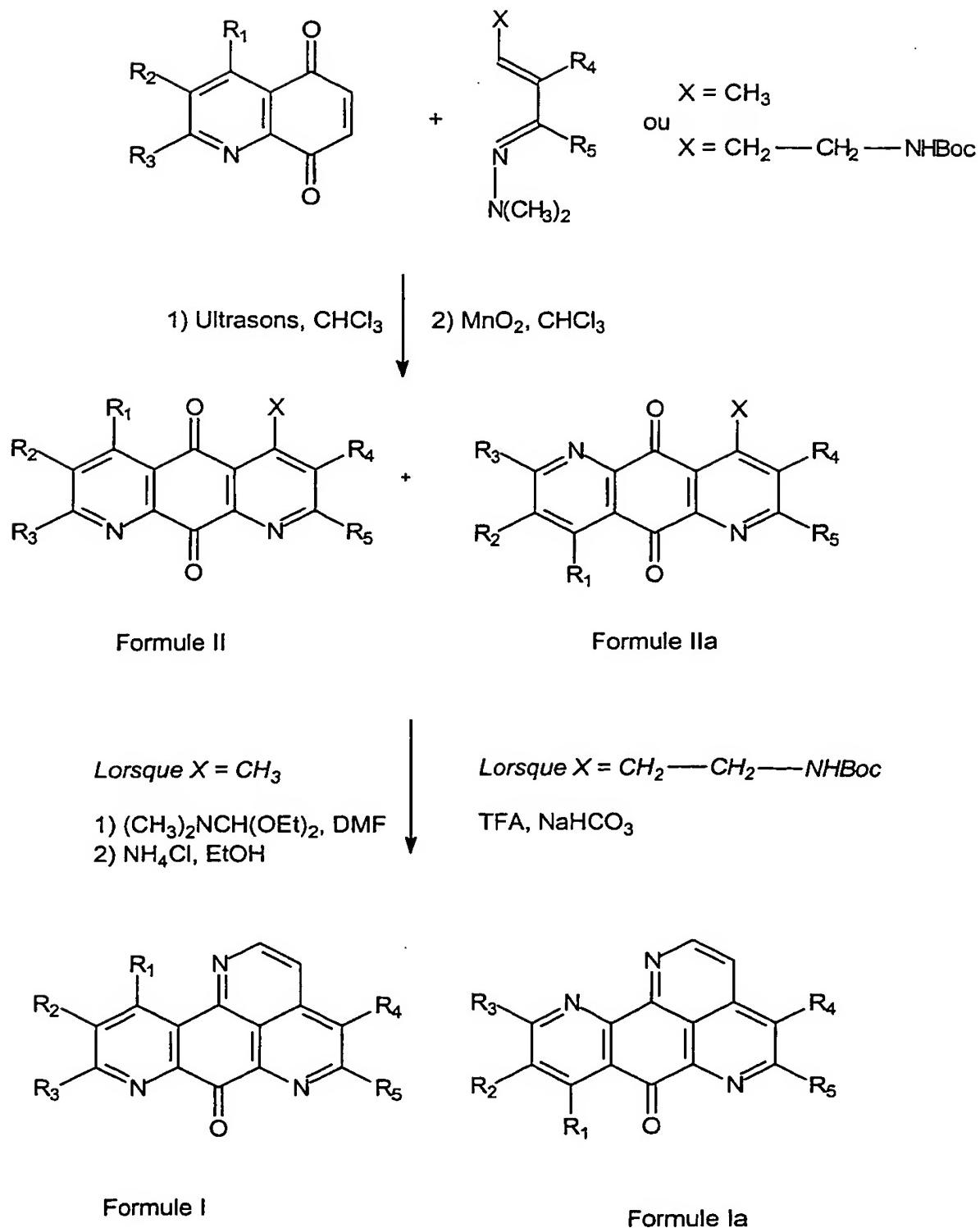
La présente invention a plus particulièrement pour objet les composés choisis parmi les composés de formule (I) et de formule (Ia) dans lesquels R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -OR, les groupes nitro, -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR ou R est un groupe alkyle en C₁-C₆,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

10 Les "sels d'addition avec des acides pharmaceutiquement acceptables" désignent les sels qui donnent les propriétés biologiques des bases libres, sans avoir d'effet indésirable. Ces sels peuvent être notamment ceux formés avec des acides minéraux, tels que l'acide chlorhydrique, l'acide bromhydrique, l'acide sulfurique, l'acide nitrique, l'acide phosphorique; des sels métalliques acides, tels que l'orthophosphate disodique et
15 le sulfate monopotassique, et des acides organiques.

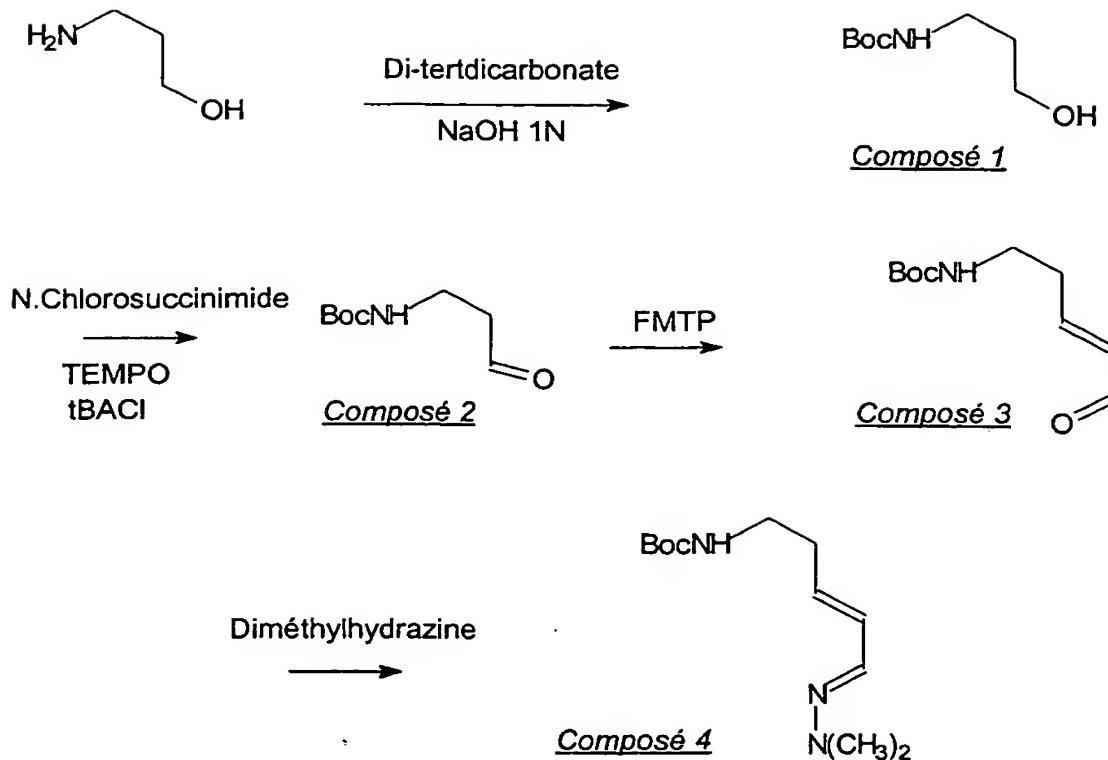
De manière générale, les composés de formule (I) et (Ia) sont obtenus selon le schéma réactionnel général I, présenté ci-après. Selon ce schéma, les composés de formule I et Ia peuvent être préparés par une réaction d'hétéro Diels-Alder entre une
20 quinoléine-5,8 dione substituée et un aza-diène substitué, suivi de la deshydrogénéation du composé dihydrogéné intermédiaire. Les composés de formule (I) et (Ia) peuvent également être préparés plus directement à partir d'autres composés de formule (I) et (Ia) déjà synthétisés :

Schéma I



Un exemple d'aza-diène substitué peut-être préparé selon le schéma II.

Schéma II



TEMPO = tétraméthyl-1-pipéridinyloxy, radical libre
 tBACl = chlorure de tétrabutyl ammonium
 FMTP = formylméthylénetriphénylphosphorane

5

Les exemples suivants illustrent la préparation des composés de formules (I) et (Ia).

A - Préparation de l'aza-diène selon le schéma II

10 A-1 - Synthèse du N-BOC-1-amino-2-hydroxy-propane (Composé 1)

A une solution de 2ml (27 mmol) de 3-amino-1-propanol dans un mélange de 60 ml de dioxane, 30 ml d'eau et 30 ml de NaOH 1N, on ajoute à 0 °C, 4,2 g (29,7 mmol) de di-tert-butyldicarbonate. Le milieu réactionnel est maintenu sous agitation à température ambiante une nuit puis il est acidifié à pH 1 à l'aide d'HCl

concentré. Après plusieurs extractions (3 fois 50 ml) par l'acétate d'éthyle (AcOEt), les phases organiques sont séchées sur MgSO₄ puis concentrées à l'évaporateur rotatif pour donner 4 g de produit attendu sous forme d'une huile jaune:

- Rendement : 85 %.
- 5 • ¹H RMN (CDCl₃) : 1,25 (s, 9H) ; 2,50 (m, 2H) ; 3,05 (m, 2H) ; 3,45 (m, 2H) ; 5,40 (s large, 1H).

A-2 - Synthèse du N-BOC-3-amino-propanal (Composé 2)

18 g (103 mmol) de composé 1, 1,62 g (10,4 mmol) de TEMPO (tétraméthyl-1-pipéridinyloxy, radical libre), 2,9 g (10,45 mmol) de chlorure de tétrabutyl ammonium et 21 g (75,5 mmol) de N-chlorosuccinimide sont mis en suspension dans 351 ml de NaHCO₃ / K₂CO₃ (0,5 N / 0,05 N) et 351 ml de HCCl₃. Le milieu réactionnel est fortement agité pendant 2 heures. La phase organique est décantée, séchée sur MgSO₄ puis concentrée à l'évaporateur rotatif pour donner l'aldéhyde attendue sous forme 15 d'huile orange clair.

- Rendement : 100 %.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 1,35 (s, 9H) ; 2,44 (d, 2H, J = 6,8 Hz) ; 3,21 (m, 2H) ; 4,90 (s large, 1H) ; 6,04 (dd, 1H, J = 8 et 15,6 Hz) ; 6,74 (td, 1H, J = 6,8 et 15,6 Hz) ; 9,39 (d, 1H, J = 8 Hz).

20

A-3 - Synthèse du N-BOC-5-amino-2-penten-1-al (Composé 3)

11 g (66,7 mmol) de composé 2 et 24,3 g (80 mmol) de formylméthylénetriphénylphosphorane (FMTP) sont solubilisés dans 350 ml de benzène puis le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 9 heures. Après évaporation du 25 solvant à l'évaporateur rotatif, le résidu est filtré une première fois sur silice [(CHCl₃ / heptane 1 : 1) puis CHCl₃] pour éliminer la triphénylphosphine. Une deuxième filtration sur silice (AcOEt / heptane 8 : 2) permet d'obtenir 3,88 g de composé 3 sous forme d'une huile jaune-orange.

- Rendement : 29 %
- 30 • ¹H RMN (CDCl₃) : 1,47 (s, 9H) ; 2,60 (m, 2H) ; 3,38 (m, 2H), 4,82 (s large, 1H) ; 6,18 (dd, 1H) ; 6,88 (td, 1H) ; 9,55 (d, 1H).

A-4 - Synthèse de la diméthylhydrazone du N-BOC-5-amino-2-penten-1-al (Composé 4)

A 1,47 ml (19,5 mmol) de diméthylhydrazine et 8 gouttes d'acide acétique dans 30 ml d'éther sont ajoutés à 0 °C 3,88 g (19,5 mmol) de composé 3. Le milieu réactionnel est laissé sous agitation 10 min, la phase organique est décantée, lavée par de l' HCl 1N puis par une solution saturée de NaCl. Après séchage sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, 4,4 g d'hydrazone (composé 4) sont obtenus sous forme d'huile jaune-orangé.

• Rendement : 94 %

- ¹H RMN (CDCl₃) : 2,30 (s, 9H) ; 2,3 (m, 2H) ; 2,82 (m, 2H), 4,52 (s large, 1H) ; 5,70 (td, 1H, J = 6,8 et 15,6 Hz) ; 6,22 (ddd, 1H, J = 0,8 et 8,8 et 15,6 Hz) ; 6,96 (d, 1H, J = 8,8 Hz).
- ¹³C RMN (CDCl₃) : 28,15 ; 33,05 ; 39,58 ; 42,51 ; 78,77 ; 130,84 ; 130,95 ; 135,54 ; 155,68.

B - Préparation des composés de formule II et IIa

15

B-1 - Synthèse de la 4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione (intermédiaire I-1b) et de la 4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione (intermédiaire II-1b)

Un mélange de 0,5 g (3,14 mmol) de quinoline-5,8-dione, 0,35 g (3,14 mmol) de diméthylhydrazone du crotonaldéhyde et 0,45 ml (4,76 mmol) d'anhydride acétique dans 20 ml de CHCl₃ sont traités dans un bain à ultrasons pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est filtré sur silice (CHCl₃) pour donner 0,428 g de mélange des deux isomères I-1a et II-1a sous forme de poudre violette. Cette poudre et 1,6 g (18,4 mmol) de MnO₂ sont mis en suspension dans 20 ml de CHCl₃ et le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. Après filtration sur célite, le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH 98 : 2) pour donner :

Intermédiaire (I-1b) : la 4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione :

- 40 mg (Rendement : 6 %) sous forme de poudre marron.
- Point de fusion : 220 °C.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 2,91 (s, 3H) ; 7,54 (d, 1H, J = 4,8 Hz) ; 7,75 (dd, 1H, J = 4 et 7,6 Hz) ; 8,67 (dd, 1H, J = 2 et 7,6 Hz) ; 8,91 (d, 1H, J = 4,8 Hz) ; 9,12 (dd, 1H, J = 2 et 4 Hz).

- ^{13}C RMN (CDCl_3) : 22,75 ; 127,93 ; 128,04 ; 129,32 ; 131,50 ; 135,50 ; 148,73 ; 149,26 ; 152,11 ; 153,68 ; 155,47 ; 181,46 ; 182,87.
- IR (CHCl_3) : 1689.

Intermédiaire (II-1b) : la 4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione

- 5 • 160 mg (Rendement : 23 %) sous forme d'une poudre marron.
- Point de fusion : 270 °C .
- ^1H RMN (CDCl_3) : 2,94 (s, 3H) ; 7,52 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 7,76 (dd, 1H, $J = 4,8$ et 8,4 Hz) ; 8,59 (dd, 1H, $J = 2$ et 8,4 Hz) ; 8,92 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 9,11 (dd, 1H, $J = 2$ et 4,8 Hz).
- 10 • ^{13}C RMN (CDCl_3) : 22,81 ; 128,30 ; 128,39 ; 130,84 ; 131,55 ; 135,52 ; 147,90 ; 149,95 ; 151,74 ; 153,94 ; 155,35 ; 180,42 ; 184,02. IR (HCCl_3) 1672 ; 1700.

B-2 - Synthèse de la 9-méthoxy-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione

15 **(Intermédiaire I-2b) et de la 6-méthoxy-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione (intermédiaire II-2b) :**

Un mélange de 0,5 g (2,8 mmol) de 4-méthoxy-quinoline-5,8-dione, 0,32 g (2,87 mmol) de diméthylhydrazone du crotonaldéhyde et 0,4 ml (4,23 mmol) d'anhydride acétique dans 8 ml de CHCl_3 sont portés à reflux pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est filtré sur silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98 : 2) pour donner 0,48 g de mélange des deux isomères I-2a et II-2a sous forme de poudre violette. Cette poudre et 2,3 g (26,45 mmol) de MnO_2 sont mis en suspension dans 26 ml de CHCl_3 et le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. Après filtration sur céelite, le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98 : 2) pour donner :

- 25 **Intermédiaire I-2b : la 9-méthoxy-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione:**
- 57 mg (Rendement : 8 %) sous forme de poudre rouge.
 - ^1H RMN (CDCl_3) : 2,84 (s, 3H) ; 4,06 (s, 3H) ; 7,18 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 7,46 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz) ; 8,87 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,87 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz).
- 30 **Intermédiaire II-2b : la 6-méthoxy-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione :**
- 293 mg (Rendement : 40 %) sous forme d'une poudre orange.
 - ^1H RMN (CDCl_3) : 2,80 (s, 3H) ; 4,05 (s, 3H) ; 7,2 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 7,48 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 8,85 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,88 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz).

- ^{13}C RMN (CDCl_3) : 21,75 ; 43,41 ; 112,74 ; 119,72 ; 130,93 ; 131,04 ; 148,32 ; 149,22 ; 150,26 ; 151,60 ; 152,80 ; 155,11 ; 181,44 ; 184,53.
- IR (CHCl_3) : 1675 ; 1700.

5 **B-3 - Synthèse de la 9-nitro-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione
(Intermédiaire I-5b) et de 6-nitro-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione
(intermédiaire II-5b) :**

Un mélange de 0,8 g (3,92 mmol) de 4-nitro-quinoline-5,8-dione, 0,65 g (5,8 mmol) de diméthylhydrazone du crotonaldéhyde et 0,55 ml (5,8 mmol) d'anhydride acétique dans 10,5 ml de CHCl_3 sont traités dans un bain à ultrasons 30 min. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est filtré sur silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98 : 2) pour donner 0,7 g de mélange des deux isomères I-5a et II-5a sous forme de poudre violette. Cette poudre et 2,9 g (33,4 mmol) de MnO_2 sont mis en suspension dans 29 ml de CHCl_3 et le mélange est porté à reflux pendant 2 heures.

10 Après filtration sur céléite, le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98 : 2) pour donner :

15 Après filtration sur céléite, le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 98 : 2) pour donner :

Intermédiaire I-5b : la 9-nitro-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione

- 110 mg (Rendement : 11 %) sous forme de poudre.
- 20 • ^1H RMN (CDCl_3) : 2,98 (s, 3H) ; 7,19 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 7,54 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 8,79 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 8,94 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz).
- IR (HCCl_3) : 1703.

Intermédiaire II-5b : la 6-nitro-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione

- 165 mg (Rendement : 16 %) sous forme d'une poudre jaune-marron.
- 25 • ^1H RMN (CDCl_3) : 2,85 (s, 3H) ; 7,6 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 7,74 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 8,99 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 9,33 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz).

**B-4 - Synthèse de la 6-diméthylamino-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione
(Intermédiaire II-3b)**

- 30 150 mg (0,558 mmol) de tricycle nitré II-5a (préparation chapitre B-3) et 0,4 ml (1,95 mmol) de N,N-diméthylformamide diéthyl acétal sont solubilisés dans 2,1 ml de DMF et le milieu réactionnel est chauffé à 130 °C pendant 1 heure. Après évaporation

du solvant à la pompe à vide, on obtient 140 mg de composé intermédiaire **II-3b** qui sera utilisé tel quel dans l'étape suivante.

- Rendement : 94 %.
- ^1H RMN (CDCl_3) : 2,77 (s, 3H) ; 3,05 (s, 6H) ; 6,89 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 7,39 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz) ; 8,42 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,74 (d, 1H, $J = 4,8$ Hz).

B-5 - Synthèse de la 9-chloro-4-(N-BOC-1-aminoéthane)-5,10-dihydropyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione (Intermédiaire I-7b) et de la 6-chloro-4-(N-BOC-1-aminoéthane)-5,10-dihydropyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione (intermédiaire II-7b) :

Un mélange de 0,6 g (3,1 mmol) de 4-chloro-quinoline-5,8-dione, 0,75 g (3,1 mmol) de diméthylhydrazone **4** et 0,45 ml (4,76 mmol) d'anhydride acétique dans 8,5 ml de CHCl_3 sont traités dans un bain à ultrasons pendant 30 min. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est additionné de 2,7 g (31,1 mmol) de MnO_2 et de 22 ml de CHCl_3 et le mélange est porté à reflux pendant 2 heures. Après filtration sur céléite, le filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ 99 : 1) pour donner :

- Intermédiaire I-7b : 9-chloro-4-(N-BOC-1-aminoéthane)-5,10-dihydropyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione**
- 70 mg (Rendement : 6 %) sous forme de poudre marron.
 - ^1H RMN (CDCl_3) : 1,35 (s, 9H) ; 3,45-3,52 (m, 4H) ; 4,86 (s large, 1H) ; 7,56 (d, 1H, $J = 4,0$ Hz) ; 7,74 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 8,90 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 8,94 (d, 1H, $J = 4$ Hz) ;
 - ^{13}C RMN (CDCl_3) : 28,37 ; 35,32 ; 40,30 ; 79,47 ; 126,84 ; 128,04 ; 130,88 ; 131,17 ; 145,78 ; 150,34 ; 150,98 ; 152,29 ; 154,05 ; 154,36 ; 155,88 ; 179,76 ; 182,32.
 - IR (CHCl_3) : 1695

- Intermédiaire II-7b : 6-chloro-4-(N-BOC-1-aminoéthane)-5,10-dihydropyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione**
- 200 mg (Rendement : 17 %) sous forme d'une poudre marron.
 - ^{13}C RMN (CDCl_3) : 28,24 ; 34,96 ; 40,33 ; 79,47 ; 128,46 ; 130,15 ; 131,06 ; 131,59 ; 145,20 ; 148,76 ; 149,71 ; 151,74 ; 153,88 ; 153,92 ; 155,84 ; 179,76 ; 183,20.
 - IR (CHCl_3) : 1705.

B-6 - Synthèse de la 3-méthoxy-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione (I-8b) et de la 3-méthoxy-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione (II-8b)

Un mélange de 1 g (6,28 mmol) de quinoline-5,8-dione, 1,78 g (12,57 mmol) de la diméthylhydrazone du 2-méthoxy-2-buténal dans 25 ml de CHCl₃ sont agités à température ambiante pendant 5 heures. Après évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le milieu réactionnel est filtré sur silice (CH₂Cl₂/MeOH 95 : 5) pour donner 1,55 g de mélange des deux isomères I-8a et II-8a sous forme de poudre violette. Cette poudre et 1 g (11,5 mmol) de MnO₂ sont mis en suspension dans 30 ml de CHCl₃ et le mélange est agité à température ambiante pendant 1 heure. Après filtration sur célite, le 10 filtrat est concentré à l'évaporateur rotatif puis purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CH₂Cl₂/MeOH 99 : 1) pour donner :

Intermédiaire I-8b : la 3-méthoxy-4-méthylpyrido[2,3-g]quinoline-5,10-dione

- 110 mg (Rendement : 7 %) sous forme d'une poudre marron.
- 15 • Point de fusion : > 260 °C.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 2,79 (s, 3H) ; 4,11 (s, 3H) ; 7,72 (dd, 1H, J = 4,8 et 8,1 Hz) ; 8,66 (s , 1H) ; 8,67 (dd, 1H, J = 8,1 et 1,9 Hz) ; 9,10 (dd, 1H, J = 4,8 et 1,9 Hz).
- ¹³C RMN (CDCl₃) : 13,03 ; 56,87 ; 127,88 ; 129,50 ; 129,95 ; 135,50 ; 136,64 ; 139,26 ; 142,56 ; 149,33 ; 155,11 ; 157,24 ; 180,63 ; 183,56.
- 20 • IR (CHCl₃) : 1684.

Intermédiaire II-8b : la 3-méthoxy-4-méthylpyrido[3,2-g]quinoline-5,10-dione

- 190 mg (Rendement : 12 %) sous forme d'une poudre marron.
- Point de fusion : > 260 °C.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 2,77 (s, 3H) ; 4,12 (s, 3H) ; 7,74 (dd, 1H, J = 4,6 et 8,0 Hz) ; 7,60 (dd, 1H, J = 8,0 et 1,6 Hz) ; 8,68 (s, 1H) ; 9,12 (dd, 1H, J = 4,6 et 1,6 Hz).
- 25 • ¹³C RMN (CDCl₃) : 12,98 ; 56,93 ; 127,99 ; 129,06 ; 131,27 ; 135,53 ; 136,84 ; 138,81 ; 143,27 ; 148,16 ; 155,20 ; 157,16, 179,69 ; 184,59.
- IR (CHCl₃) : 1670 ; 1692.

EXEMPLE 1 :**7H-pyrido[4,3,2-de][1,10]phénanthroline-7-one (CRL 8293)**

0,63 g (2,81 mmol) de composé I-1b et 1,7 ml (9,84 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 4,5 ml de DMF sont portés à 120°C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 3,5 g (65 mmol) de NH₄Cl et 60 ml d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 50 ml d'eau et extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 50 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, 0,6 g de tétracycle sont obtenus sous forme d'une poudre verdâtre.

- Rendement : 90 %.
- Point de fusion : 240 °C.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 7,68 (dd, 1H, J = 4,4 et 8 Hz) ; 7,87 (d, 1H, J = 5,6 Hz) ; 8,02 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 8,77 (dd, 1H, J = 1,6 et 8 Hz) ; 9,11 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 9,16 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,4 Hz) ; 9,19 (d, 1H, J = 5,6 Hz).
- ¹³C RMN (CDCl₃) : 120,95 ; 124,40 ; 126,14 ; 129,32 ; 136,78 ; 139,09 ; 147,45 ; 148,58 ; 148,82 ; 148,96 ; 150,66 ; 152,00 ; 155,73 ; 181,96.

EXEMPLE 2 :**7H-pyrido[4,3,2-de][1,7]phénanthroline-7-one (CRL 8294)**

0,87 g (3,88 mmol) du composé II-1b et 2,5 ml (14,7 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 6,1 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 4,9 g (91 mmol) de NH₄Cl et 780 ml d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 50 ml d'eau et extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 50 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, 0,72 g de tétracycle sont obtenus sous forme d'une poudre jaune.

- Rendement : 80 %.
- ¹H RMN (CDCl₃) : 7,76 (dd, 1H, J = 4,4 et 8 Hz) ; 7,80 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 7,99 (d, 1H, J = 5,6 Hz) ; 8,93 (d, 1H, J = 5,6 Hz) ; 9,05 (dd, 1H, J = 1,6 et 4,4 Hz) ; 9,17 (dd, 1H, J = 1,6 et 8 Hz) ; 9,19 (d, 1H, J = 5,2 Hz).

- ^{13}C RMN (CDCl_3) : 119,39 ; 120,01 ; 123,85 ; 128,15 ; 132,87 ; 133,80 ; 138,65 ; 147,54 ; 147,74 ; 148,93 ; 149,49 ; 149,99 ; 152,97 ; 180,73.

EXEMPLE 3 :

5 **8-méthoxy-7*H*-pyrido[4,3,2-de][1,10]phénanthroline-7-one (CRL 8363)**

0,74 g (2,92 mmol) du composé I-2b et 2 ml (11,8 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 5,2 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 4,5 g (83,6 mmol) de NH₄Cl et 67 ml 10 d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 50 ml d'eau et extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 50 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le résidu est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CHCl₃ / MeOH 98 : 2) pour donner 0,28 g de 15 tétracycle sous forme d'une poudre orange.

• Rendement : 37%.

- ^1H RMN (CDCl_3) : 4,20 (s, 3H) ; 7,13 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 7,82 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 7,94 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,92 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 9,07 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 9,13 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 9,19 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz).

20 • ^{13}C RMN (CDCl_3) : 56,77 ; 109,26 ; 119,70 ; 120,47 ; 123,09 ; 138,50 ; 147,85 ; 148,25 ; 148,69 ; 150,66 ; 154,08 ; 155,68 ; 167,54 ; 180,40.

EXEMPLE 4 :

11-méthoxy-7*H*-pyrido[4,3,2-de][1,7]phénanthroline-7-one (CRL 8364)

25

1,14 g (4,48 mmoles) de composé II-2b et 3 ml (14,7 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 8 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 4,5 g (83,6 mmol) de NH₄Cl et 67 ml d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux 30 pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 50 ml d'eau et extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 50 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le résidu

est purifié par flash-chromatographie sur colonne de silice (CHCl₃ / MeOH 98 : 2) pour donner 0,59 g de tétracycle sous forme d'une poudre jaune.

- Rendement : 50%.

• ¹H RMN (CDCl₃) : 4,15 (s, 3H) ; 7,26 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 7,70 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 7,96 (d, 1H, J = 5,6 Hz) ; 8,85 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 8,97 (d, 1H, J = 6 Hz) ; 9,15 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

• ¹³C RMN (CDCl₃) : 57,05 ; 111,33 ; 118,72 ; 119,61 ; 122,12 ; 124,29 ; 138,56 ; 146,71 ; 147,10 ; 148,69 ; 149,81 ; 150,96 ; 153,13 ; 165,83 ; 180,82.

10 **EXEMPLE 5 :**

11-(diméthylamino)-7H-pyrido[4,3,2-de][1,7]phénanthroline-7-one (CRL8367)

80 mg (0,3 mmol) de tricycle II-3b et 0,21 ml (1,05 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 1,2 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure.

15 Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 0,5 g (9,3 mmol) de NH₄Cl et 80 ml d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 40 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 5 ml d'eau et extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 5 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, le tétracycle est obtenu sous 20 forme d'une poudre rouge.

- Rendement : 100 %

• ¹H RMN (CDCl₃) : 3,00 (s, 6H) ; 7,09 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 7,57 (d, 1H, J = 5,6 Hz) ; 7,90 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 8,54 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 8,89 (d, 1H, J = 5,2 Hz) ; 9,11 (d, 1H, J = 5,6 Hz).

25

EXEMPLE 6 :

11-hydroxy-7H-pyrido[4,3,2-de][1,7]phénanthroline-7-one (CRL 8388)

50 mg (0,126 mmol) de tricycle II-7b sont mis en solution dans 0,5 ml de TFA, puis 30 le milieu réactionnel est agité 24 heures. Le TFA est évaporé à l'évaporateur rotatif puis on ajoute une solution saturée de NaHCO₃ jusqu'à obtention de pH 9-10. Le milieu est extrait au CH₂Cl₂ (3 fois 3 ml). Après séchage sur MgSO₄ et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, on obtient 20 mg de tétracycle sous forme de poudre jaune.

- Rendement : 62%.

- Point de fusion : > 260 °C.
- ^1H RMN (CDCl_3) : 7,20 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 7,83 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,00 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,72 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,76 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 9,24 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz), 14,65 (s, 1H).
- 5 • ^{13}C RMN (DMSO, d_6) : 116,22 ; 116,35 ; 118,61 ; 120,24 ; 124,06 ; 138,09 ; 143,61 ; 148,04 ; 148,99 ; 149,41 ; 152,61 ; 153,01 ; 165,80 ; 179,55.

EXEMPLE 7 :

8-chloro-7*H*-pyrido[4,3,2-de][1,10]phénanthroline-7-one (CRL 8396)

10

260 mg (0,67 mmol) de tricycle I-7b sont mis en solution dans 2,6 ml de TFA, puis le milieu réactionnel est agité 64 heures. Le TFA est évaporé à l'évaporateur rotatif puis on ajoute 200 ml de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 95 : 5 et une solution saturée de NaHCO_3 jusqu'à obtention de pH 10. On récupère la phase organique et on la lave à l'eau. Après séchage sur MgSO_4 et évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif, on obtient 40 mg de tétracycle sous forme d'une poudre marron que l'on lave à l'éther.

- 15 • Rendement : 28%.
- Point de fusion : > 260 °C.
- ^1H RMN (CDCl_3) : 7,68 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 7,89 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz) ; 8,01 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz) ; 8,96 (d, 1H, $J = 5,2$ Hz) ; 9,14 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz) ; 9,19 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz).
- 20 • ^{13}C RMN (DMSO, d_6) : 119,87 ; 120,88 ; 123,61 ; 126,31 ; 129,01 ; 138,56 ; 146,87 ; 147,37 ; 148,46 ; 148,94 ; 149,76 ; 153,85 ; 153,96 ; 179,87.

EXEMPLE 8 :

25 4-méthoxy-7*H*-pyrido[4,3,2-de][1,10]phénanthroline-7-one (CRL 8400)

0,1 g (0,39 mmol) de tricycle I-8b et 0,27 ml (1,37 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 0,7 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 0,6 g (11,7 mmol) de NH_4Cl et 90 ml 30 d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 10 ml d'eau et extrait au CH_2Cl_2 (3 fois 10 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO_4 , évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif et purification par filtration sur

silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ 95: 5) 85 mg de tétracycle sont obtenus sous forme d'une poudre marron.

- Rendement : 83%.
- Point de fusion : > 260 °C.
- 5 • ^1H RMN (CDCl_3) : 4,27 (s, 3H) ; 7,65 (dd, 1H, $J = 4,8$ et 8 Hz) ; 8,15 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 8,70 (s, 1H) ; 8,78 (dd, 1H, $J = 8$ et 1,9 Hz) ; 9,10 (d, 1H, $J = 6$ Hz) ; 9,13 (dd, 1H, $J = 1,9$ et 4,8 Hz).
- ^{13}C RMN (DMSO, d_6) : 56,97 ; 115,63 ; 120,81 ; 125,52 ; 129,02 ; 129,16 ; 130,22 ; 136,24 ; 139,81 ; 147,37 ; 149,31 ; 151,65 ; 153,07 ; 154,81 ; 180,34.
- 10 • IR (CHCl_3) : 1674.

EXEMPLE 9 :

4-méthoxy-7*H*-pyrido[4,3,2-de][1,7]phénanthroline-7-one (CRL 8401)

15 0,1 g (0,39 mmol) de tricycle II-8b et 0,27 ml (1,37 mmol) de diméthylformamide diéthylacétal dans 0,7 ml de DMF sont portés à 120 °C, sous azote, pendant 1 heure. Après évaporation du solvant à la pompe à vide, 0,6 g (11,7 mmol) de NH_4Cl et 90 ml d'éthanol absolu sont ajoutés. Le milieu réactionnel est porté à reflux pendant 30 min. Après évaporation de l'éthanol à l'évaporateur rotatif, le résidu est additionné de 10 ml 20 d'eau et extrait au CH_2Cl_2 (3 fois 10 ml). Après séchage des phases organiques sur MgSO_4 , évaporation du solvant à l'évaporateur rotatif et purification par filtration sur silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2 / \text{MeOH}$ 98 : 2) 60 mg de tétracycle sont obtenus sous forme d'une poudre jaune-marron.

- Rendement : 59 %.
- 25 • Point de fusion : > 260 °C.
- ^1H RMN (CDCl_3) : 4,27 (s, 3H) ; 7,74 (dd, 1H, $J = 4,4$ et 8,1 Hz) ; 8,08 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 8,72 (s, 1H) ; 8,93 (d, 1H, $J = 5,6$ Hz) ; 9,05 (dd, 1H, $J = 1,9$ et 4,4 Hz) ; 9,19 (dd, 1H, $J = 1,9$ et 8,1 Hz).
- ^{13}C RMN (DMSO, d_6) : 57,03 ; 115,16 ; 119,70 ; 127,69 ; 129,48 ; 130,15 ; 132,86 ; 133,74 ; 140,82 ; 146,80 ; 147,98 ; 148,63 ; 152,81 ; 152,98 ; 179,84.
- 30 • IR (CHCl_3) : 1679.

Les résultats des essais pharmacologiques *in vitro* et *in vivo*, présentés ci-après, mettent en évidence les propriétés cytotoxiques des composés de formule (I) et (Ia), ainsi que les doses maximales tolérées (DMT).

5 **1 - Activité cytotoxique sur des lignées cellulaires tumorales en culture
(test MTT)**

L'influence des composés de formule (I) et (Ia) sur les cellules tumorales a été évaluée à l'aide du test colorimétrique MTT (T. Mosman. J. Immunol Methods 1983 ; 65 : 55-63, J. Carmichael *et al.* Cancer Res. 1987 ; 47 : 936-942).

10 Le principe du test MTT est basé sur la réduction mitochondriale par les cellules vivantes métaboliquement actives du produit MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényltétrazolium) de couleur jaune en un produit de couleur bleue, le formazan. La quantité de formazan ainsi obtenue est directement proportionnelle à la quantité de cellules vivantes présentes dans le ou les puits de culture. Cette quantité de
15 formazan est mesurée par spectrophotométrie.

Les lignées cellulaires sont maintenues en culture monocouche à 37° C dans des boîtes de culture à bouchon fermé contenant du milieu de base MEM 25 MM HEPES (Minimum Essential Medium). Ce milieu est bien adapté à la croissance d'une gamme de cellules variées diploïdes ou primaires de mammifères. Ce milieu est ensuite
20 additionnée :

- d'une quantité de 5% de SVF (Sérum de Veau Foetal) décomplémenté à 56° C pendant 1 heure,
- de 0,6 mg/ml de L-glutamine,
- de 200 IU/ml de pénicilline,
- 25 - de 200 µg/ml de streptomycine,
- de 0,1 mg/ml de gentamicine.

Les 12 lignées cellulaires cancéreuses humaines qui ont été utilisées ont été obtenues auprès de l'*American Type Culture Collection* (ATCC, Rockville, MD, USA). Ces 12 lignées cellulaires sont :

- 30 - U-373MG (code ATCC : HTB-17) et U-87MG (code ATCC : HTB-14) qui sont deux glioblastomes,
- SW1088 (code ATCC : HTB-12) qui est un astrocytome,
- A549 (code ATCC : CCL-185) et A-427 (code ATCC : HTB-53) qui sont deux cancers du poumon non-à-petites-cellules,

- HCT-15 (code ATCC : CCL-225) et LoVo (code ATCC : CCL-229) qui sont deux cancers colorectaux,
- T-47D (code ATCC : HTB-133) et MCF7 (code ATCC : HTB-22) qui sont deux cancers du sein,
- 5 - J82 (code ATCC : HTB-1) et T24 (code ATCC : HTB-4) qui sont deux cancers de la vessie,
- PC-3 (code ATCC : CRL-1435) qui est un cancer de la prostate.

Au plan expérimental : 100 µl d'une suspension cellulaire contenant 20 000 à 50 000 10 (selon le type cellulaire utilisé) cellules/ml de milieu de culture sont ensemencés en plaques multi-puits de 96 puits à fond plat et sont mis à incuber à 37°C, sous atmosphère comprenant 5% de CO₂ et 70% d'humidité. Au bout de 24 heures d'incubation, le milieu de culture est remplacé par 100 µl de milieu frais contenant soit les 15 différents composés à tester à des concentrations variant de 10⁻⁵ à 10⁻¹⁰ M soit le solvant ayant servi à la mise en solution des produits à tester (condition contrôle). Après 72 heures d'incubation dans les conditions précédentes, le milieu de culture est remplacé par 100 µl d'une solution jaunâtre de MTT dissous à raison de 1 mg/ml dans du RPMI 1640. Les microplaques sont remises à incuber pendant 3 heures à 37°C puis centrifugées pendant 10 minutes à 400 g. La solution jaunâtre de MTT est éliminée et les 20 cristaux de formazan bleu formés au niveau cellulaire sont dissous dans 100 µl de DMSO. Les microplaques sont ensuite mises sous agitation pendant 5 minutes. L'intensité de la coloration bleue résultant donc de la transformation du produit MTT jaune en formazan bleu par les cellules encore vivantes au terme de l'expérience est quantifiée par spectrophotométrie à l'aide d'un appareil de type *DYNATECH 25 IMMUNOASSAY SYSTEM* aux longueurs d'onde de 570 nm et 630 nm correspondant respectivement aux longueurs d'ondes d'absorbance maximale du formazan et au bruit de fond. Un logiciel intégré au spectrophotomètre calcule les valeurs moyennes de densité optique ainsi que les valeurs de déviation standard (Dév. Std.) et d'erreur standard sur la moyenne (ESM).

30 L'activité inhibitrice de la croissance cellulaire des composés de formule (I) et (la) sur les différentes lignées cellulaires tumorales a été mesurée en comparaison avec celle du produit naturel. A titre d'exemple, les valeurs des concentrations encadrant les concentrations inhibitrices 50 % (CI 50) obtenues pour chaque composé sont présentées, dans le tableau I, ci-après :

TABLEAU I

LIGNES CELLULAIRES	COMPOSES (concentration : mol.l ⁻¹)								
	CRL8293	CRL8294	CRL8363	CRL8364	CRL8367	CRL8388	CRL8396	CRL8400	CRL8401
U-87MG	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
U-373MG	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
SW1088	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]			
T24	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
J82	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]
HCT-15	[10 ⁻⁴ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
LoVo	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]			
MCF7	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
T-47D	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]			
A549	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁴]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
A-427	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]
PC-3	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	> 10 ⁻⁵	[10 ⁻⁵ ,10 ⁻⁶]	[10 ⁻⁶ ,10 ⁻⁷]	[10 ⁻⁷ ,10 ⁻⁸]

L'ensemble des composés étudiés présente une activité inhibitrice significative de la prolifération cellulaire des 12 lignées tumorales humaines : U-87MG, U-373MG, SW 1088, T24, J82, HCT-15, LoVo, MCF7, T-47D, A549, A-427 et PC-3 avec une CI 50 pouvant être comprise entre 10⁻⁵ et 10⁻⁸M, selon les composés et les lignées tumorales testés.

2 - Détermination de la dose maximale tolérée (DMT)

L'évaluation de la dose maximale tolérée a été réalisée chez des souris B6D2F1/Jico âgées de 4 à 6 semaines. Les composés ont été administrés par voie intrapéritonéale à 5 des doses croissantes s'échelonnant de 2,5 à 160 mg/kg. La valeur de la DMT (exprimée en mg/kg) est déterminée à partir de l'observation du taux de survie des animaux sur une période de 14 jours après une administration unique du produit considéré. L'évolution pondérale des animaux est également suivie pendant cette période. Lorsque que la valeur de la DMT est supérieure à 160 mg/kg, la valeur de la 10 DMT est assimilée à 160 mg/kg par défaut.

Les résultats de l'estimation de la dose maximale tolérée (DMT) sont rassemblés dans le tableau II suivant :

TABLEAU II
Doses Maximales Tolérées

15

Composés CRL	DMT (mg/kg)
CRL8388 (Exemple 6)	10
CRL8293 (Exemple 1)	10
CRL8294 (Exemple 2)	10
CRL8363 (Exemple 3)	10
CRL8364 (Exemple 4)	5
CRL8367 (Exemple 5)	10
CRL8396 (Exemple 7)	20
CRL8400 (Exemple 8)	> 160
CRL8401 (Exemple 9)	> 160

Les produits de cette famille présentent soit une certaine toxicité directe ou peuvent en être dépourvu et être alors utilisés *in vivo* à des concentrations tissulaires élevées, donc à des posologies fortes.

20

3 - Activité antitumorale *in vivo*

Les essais ont été réalisés sur les modèles de :

- carcinome mammaire murin MXT hormono-insensible (MXT-HI),
- adénocarcinome mammaire murin MXT hormono-sensible (MXT-HS),
- lymphome L 1210.

25

Le modèle d'adénocarcinome mammaire murin MXT de Watson C. et al. (Cancer Res. 1977 ; 37 : 3344 – 48), greffé sur des souris B6D2F1/Jlco âgées de 4 à 6 semaines, est dérivé des canaux galactophores de glande mammaire. Initialement hormono-sensible (modèle MXT-HS), la tumeur différenciée évolue vers une tumeur 5 hormono-insensible indifférenciée (modèle MXT-HI). Les agents dont l'activité antitumorale a été démontrée sur le plan clinique prolongent la survie des animaux porteurs de tumeurs MXT-HI et de tumeurs MXT-HS. C'est le cas par exemple du cyclophosphamide, de l'étoposide ou encore de l'adriamycine.

Le modèle de lymphome L 1210 est un modèle de cellules leucémiques L 1210 10 d'origine murine greffées en sous cutané chez la souris. Elles donnent naissance, dans 100% des cas, à une tumeur solide sous cutanée (L1210 s.c.) à croissance rapide.

Lorsque la valeur de DMT d'un produit a été déterminée, son activité antitumorale *in vivo* a été caractérisée aux doses de DMT/2, DMT/4 et DMT/8 sur les modèles de l'adénocarcinome mammaire d'origine murine MXT-HS , du carcinome mammaire murin 15 MXT-HI et sur le modèle du lymphome L 1210 sous-cutané.

Dans tous les exemples présentés ci-après, quelque soit le modèle, la condition contrôle est représentée par un lot de 9 ou 15 souris auxquelles est administré pendant 3 semaines consécutives et à raison de 3 administrations (lundi, mercredi et vendredi) par semaine un volume de 0,2 ml de sérum physiologique contenant le solvant utilisé 20 pour dissoudre les différents composés de formule (I) et (Ia) utilisés.

Au cours de ces essais, ont été déterminés soit la croissance tumorale soit le taux de survie des souris:

i)- La croissance tumorale a été estimée en mesurant deux fois par semaine 25 (lundi et vendredi) la surface des tumeurs MXT-HS, MXT-HI ou L 1210 greffées. Cette surface est calculée, en effectuant le produit de la valeur des deux plus grands axes perpendiculaires de la tumeur. La valeur de ces axes est mesurée à l'aide d'un pied à coulisse.

ii)- le taux de survie des souris est calculé sous forme d'un rapport T/C ou :

$T =$ $C =$	$(\text{Nombre de jours de survie de la souris médiane du lot de souris traitées})$ $(\text{Nombre de jours de survie de la souris médiane du lot de souris traitées})$	$(\text{Souris médiane traitée})$ $+ \quad \quad \quad (\text{Nombre de souris mortes le même jour que la souris médiane traitée})$ $(\text{Souris médiane traitée})$ $+ \quad \quad \quad (\text{Nombre de souris mortes le même jour que la souris médiane contrôle})$	$(\text{Nombre de souris mortes dans les jours qui ont précédé celui de la souris médiane traitée})$ $(\text{Nombre de souris mortes dans les jours qui ont précédé celui de la souris médiane traitée})$
--------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

5

Ce rapport représente le temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris traitées par rapport au temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris contrôles. Ainsi, une molécule induit une augmentation significative ($P < 0.05$) de la survie des animaux lorsque l'indice T/C excède 130%. Par contre elle présente un effet toxique lorsque cette valeur de T/C est inférieure à 70%.

10

3.1. - Carcinome mammaire murin (MXT-HI)

A titre d'exemple, nous présenterons ci-dessous l'influence des deux produits CRL8293 et CRL8294 sur la croissance des tumeurs MXT-HI. Chaque lot de souris greffées avec les tumeurs MXT-HI et relatif à une condition expérimentale donnée comprend 15 animaux.

Traitement 1

20 Le produit CRL8293 est administré par voie intra-péritonéale . La première injection du produit est réalisée au septième jour post-greffe (J7) à raison de 3 injections par semaine (lundi, mercredi et vendredi) pendant 3 semaines consécutives et à la dose de 5 mg/kg.

Traitement 2

Le produit CRL8294 est administré par voie intra-péritonéale. La première injection du produit est réalisée au septième jour post-greffe (J7) à raison de 3 injections par semaine (lundi, mercredi et vendredi) pendant 3 semaines consécutives et à la dose de 5 mg/kg.

5

Dans le tableau III suivant, sont indiquées, en pourcentage, les diminutions (-) ou les augmentations (+) de la surface des tumeurs MXT-HI induites avec les traitements 1 et 2 par rapport à la condition contrôle au 21^{ème} jour après la greffe tumorale, soit après 6 administrations du produit CRL8293 ou du produit CRL8294. Au 21^{ème} jour post-greffe

10 100% des animaux contrôles sont encore en vie.

TABLEAU III

Traitements	Surface tumorale (exprimé en %)
1 (CRL8293)	- 33
2 (CRL8294)	- 36

Ces résultats montrent que ces deux produits CRL8293 et CRL8294 induisent une diminution significative de la croissance des tumeurs MXT-HI. Ces résultats montrent que ces produits de formule I et II présentent *in vivo* et sur ce modèle une activité antitumorale intéressante.

15

3.2.- Adénocarcinome mammaire murin (MXT-HS)

20

A titre d'exemple, nous présenterons ci-dessous l'influence des deux produits CRL8293 et CRL8294 sur la croissance des tumeurs MXT-HS. Chaque lot de souris greffées avec les tumeurs MXT-HS et relatif à une condition expérimentale donnée comprend 9 animaux.

25

Traitement 10

Le produit CRL8293 est administré par voie intra-péritonéale. La première injection du produit est réalisée au septième jour post-greffe (J7) à raison de 3 injections par semaine (lundi, mercredi et vendredi) pendant 3 semaines consécutives et à la dose de 5 mg/kg.

30

Traitements 20

Le produit CRL8294 est administré seul par voie intra-péritonéale. La première injection du produit est réalisée au septième jour post-greffe (J7) à raison de 3 injections par semaine (lundi, mercredi et vendredi) pendant 3 semaines consécutives et à la dose de 5 mg/kg.

Dans le tableau IV suivant sont indiquées, en pourcentage, les diminutions (-) ou les augmentations (+) de la surface des tumeurs MXT-HS induites avec les traitements 10 et 20 par rapport à la condition contrôle au 31^{ème} jour après la greffe tumorale, soit après les 10 9 administrations, prévues dans le protocole expérimental, des 2 produits CRL8293 et CRL8294. Au 31^{ème} jour post-greffe 100% des animaux contrôles sont encore en vie.

TABLEAU IV

Traitements	Surface tumorale (exprimé en %)
10 (CRL8293)	- 45
20 (CRL8294)	- 64

15

Ces résultats montrent que ces deux produits CRL8293 et CRL8294 induisent une diminution très hautement significative de la croissance des tumeurs MXT-HS. Ces résultats montrent, comme sur le modèle MXT-HI, que les produits de formule I et II présentent également sur le modèle MXT-HS une activité antitumorale très intéressante.

20

3.3.- Lymphome L1210

A titre d'exemple, nous présenterons ci-dessous l'influence du CRL8294 sur le temps de survie des souris (tableau V). Chaque lot de souris greffées avec le lymphome L1210 et relatif à une condition expérimentale donnée comprend 9 animaux.

25

Traitements 100

Le produit CRL8294 est administré seul par voie intra-péritonéale. La première injection du produit est réalisée au septième jour post-greffe (J7) à raison de 3 injections par semaine (lundi, mercredi et vendredi) pendant 3 semaines consécutives et à la dose de 30 1,25 mg/kg.

Tableau V

Traitement	T/C (exprimé en %)
100 (CRL8294)	136

- 5 Sur le modèle du lymphome L 1210 sous-cutané, le composé CRL8294 de formule (I) présente une activité antitumorale. Cette dernière se caractérise par un allongement significatif du temps de survie moyen de la souris médiane du lot de souris ainsi traitées par rapport au temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris contrôles.

10

4 - Ratios tolérance/activité cytotoxique

Dans le tableau VI suivant, sont présentés les résultats des CI 50 (en nM) moyennes (calculées à partir des activités cytotoxiques individuelles obtenues sur 15 chacune des 12 lignées tumorales étudiées) et les ratios DMT/CI50 calculés en effectuant le rapport des DMT et des CI50. Ce dernier rapport est exprimé en nombre sans dimension.

TABLEAU VI

20

Composés CRL	CI50 (nM)	DMT/CI50	DMT/CI50*
CRL8388 (Exemple 6)	6200	0,0016	1
CRL8293 (Exemple 1)	1250	0,008	5
CRL8294 (Exemple 2)	1450	0,007	4,4
CRL8363 (Exemple 3)	500	0,02	12,5
CRL8364 (Exemple 4)	270	0,019	12
CRL8367 (Exemple 5)	1650	0,006	3,8
CRL8396 (Exemple 7)	600	0,033	20,6
CRL8400 (Exemple 8)	380	0,42	262
CRL8401 (Exemple 9)	53	3	1875

* : le ratio DMT/CI50 des différents composés a été estimé en prenant comme référence un ratio égal à 1 pour CRL8388.

Les composés de formule (I) et (Ia) présentent une activité antitumorale significative à la fois *in vitro* et *in vivo* dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus. *In vitro*, ils inhibent la croissance des cellules tumorales, comme en témoignent 5 les résultats des tests colorimétriques MTT. *In vivo*, ils inhibent de manière significative et considérable la croissance des tumeurs MXT-HI et MXT-HS et augmentent de manière significative le temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris ainsi traitées et greffées avec le lymphome L 1210 par rapport au temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris contrôles.

10

Grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les composés de formules (I) et (Ia) tels que décrits ou sous forme de sels ou solvates pharmaceutiques acceptables, peuvent être utilisés comme principes actifs de médicaments.

Les composés de formules (I) et (Ia) sont généralement administrés en unités de 15 dosage établies soit par m^2 de surface corporelle, soit par kg de poids. Les dites unités de dosage sont de préférence formulées dans des compositions pharmaceutiques dans lesquelles le principe actif est mélangé avec un (ou plusieurs) excipient(s) pharmaceutique(s).

Les composés de formule (I) et (Ia) peuvent être utilisés selon la pathologie 20 cancéreuse du sujet à traiter à des doses comprises entre 0,05 et 350 mg/ m^2 de surface corporelle, de préférence à des doses de 0,5 à 50 mg/ m^2 /jour pour un traitement curatif dans sa phase aiguë en fonction du nombre de cycles de traitement de chaque cure. Pour un traitement d'entretien, on utilisera avantageusement les composés de formules I 25 à des doses de 0,05 à 25 mg/ m^2 /jour, de préférence à des doses de 0,1 à 1,5 mg/ m^2 /jour selon le nombre de cycles de traitement de la cure. Ils pourront être associés aux médicaments anti-tumoraux utilisés dans les protocoles validés de polychimiothérapie intensive.

Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration par voie orale, intraveineuse, les principes actifs peuvent être 30 administrés sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques adaptés à la thérapeutique humaine. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, éventuellement sécables, ou les gélules, les implants et les formes d'administration intraveineuse.

Pour une administration parentérale (perfusion intraveineuse à débit constant), on utilise des suspensions aqueuses stériles, des solutions salines isotoniques stériles ou des solutions stériles et injectables qui contiennent des agents de dispersion et/ou des agents solubilisants pharmacologiquement compatibles, par exemple le propylèneglycol, 5 le polyéthylèneglycol, ou une β cyclodextrine..

Ainsi, pour préparer une solution aqueuse injectable par voie intraveineuse et destinée à une perfusion réalisée sur 1 à 24 h, on peut utiliser un cosolvant : un alcool tel que l'éthanol, un glycol tel que le polyéthylèneglycol ou le propylèneglycol et un tensioactif hydrophile tel que le Tween 80.

10 Lorsque l'on prépare une composition solide sous forme de comprimés, on peut ajouter au principe actif, micronisé ou non, un agent mouillant tel que le laurylsulfate de sodium et on mélange le tout avec un véhicule pharmaceutique tel que la silice, la gélatine, l'amidon, le lactose, le stéarate de magnésium, le talc, la gomme arabique ou analogues. On peut enrober les comprimés de saccharose, de divers polymères ou 15 d'autres matières appropriées ou encore les traiter de telle sorte qu'ils aient une activité prolongée ou retardée et qu'ils libèrent d'une façon continue une quantité prédéterminée de principe actif.

On obtient une préparation en gélules en mélangeant le principe actif avec un diluant tel qu'un glycol ou un ester de glycérol et en incorporant le mélange obtenu dans des 20 gélules molles ou dures.

Le principe actif peut être formulé également sous forme de microcapsules ou microsphères, éventuellement avec un ou plusieurs supports ou additifs.

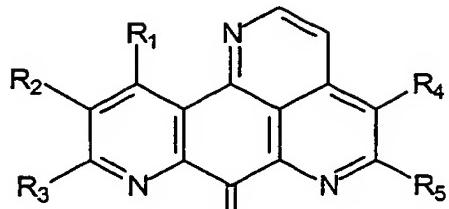
Le principe actif peut également être présenté sous forme de complexe avec une cyclodextrine, par exemple α -, β - ou γ -cyclodextrine, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrine ou 25 méthyl- β -cyclodextrine.

Les composés de formules (I) et (Ia) seront utilisés dans le traitement de la plupart des tumeurs solides du fait de leurs activités cytotoxiques puissantes, en particulier pour traiter les tumeurs cérébrales, les cancers du poumon, les tumeurs de l'ovaire et du 30 sein, les cancers de l'endomètre, les cancers colo-rectaux, les cancers de la prostate et les tumeurs testiculaires.

REVENDICATIONS

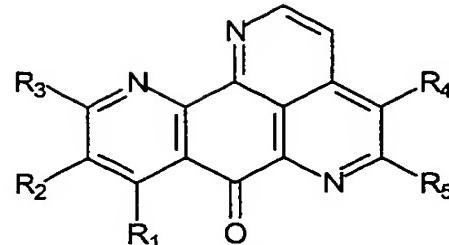
Feuille avant rectification

1 - Composés de formule :



Formule I

et



Formule Ia

5

dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -CHO, -OR, -COOH, -CN, -CO₂R, -CONHR, -CONRR', -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, morpholino, nitro, SO₃H et



10

R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆ et Ar étant un groupe aryle en C₆-C₁₄,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

15

2 - Composés selon la revendication 1 qui sont des composés de formule (I) dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -OR, -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆,

20

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

3 - Composés selon la revendication 2 qui sont des composés de formule (I) dans laquelle :

R₁ est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes hydroxy, méthoxy, nitro, -NH₂, -NHCH₃, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOCH₃,

R₂, R₃, et R₅ sont l'hydrogène,

R₄ est un groupe méthoxy,

5 et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

4- Composés selon la revendication 1 qui sont des composés de formule (Ia) dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes

10 alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -OR, -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, R et R'

étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

5 - Composés selon la revendication 4 qui sont des composés de formule (Ia) dans

15 laquelle :

R₁ est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes hydroxy, méthoxy, nitro, -

NH₂, -NHCH₃, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOCH₃,

R₂, R₃, et R₅ sont l'hydrogène,

R₄ est un groupe méthoxy,

20 et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

6 - Composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un composé

choisi parmi les composés de formule (I) et (Ia) selon l'une quelconque des

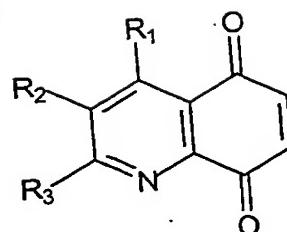
25 revendications 1, 2, 3, 4 et 5, pour traiter, grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les tumeurs cancéreuses et leurs métastases.

7 - Utilisation des composés tel que défini dans les revendications 1, 2, 3, 4 et 5 pour la fabrication d'un médicament anticancéreux.

30

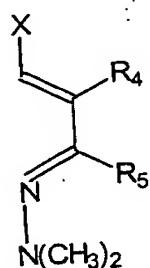
8 - Procédé de préparation de composés selon la revendication 1 qui consiste à faire réagir selon une réaction d'hétéro Diels-Alder une quinoléine dione de formule :

5



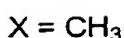
et un azadiène de formule

10

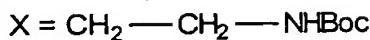


15

avec



ou

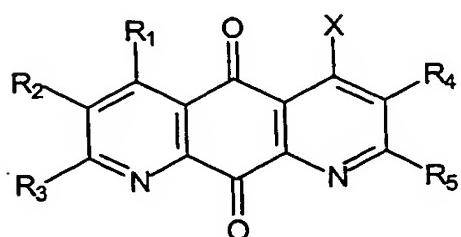


20

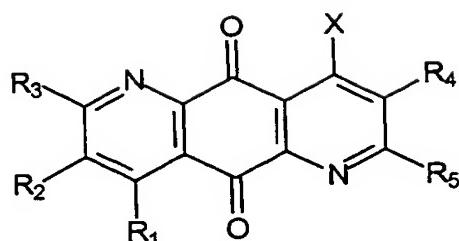
pour obtenir un mélange de composés

25

30



Formule II



Formule IIIa

35

et après séparation des composés de formules II et IIa, le composé séparé est converti en composé de formule I ou Ia.

Les composés de formule (I) et (Ia) présentent une activité antitumorale significative à la fois *in vitro* et *in vivo* dans les conditions expérimentales décrites ci-dessus. *In vitro*, ils inhibent la croissance des cellules tumorales, comme en témoignent 5 les résultats des tests colorimétriques MTT. *In vivo*, ils inhibent de manière significative et considérable la croissance des tumeurs MXT-H1 et MXT-HS et augmentent de manière significative le temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris ainsi traitées et greffées avec le lymphome L 1210 par rapport au temps de survie moyen de la souris médiane du lot des souris contrôles.

10

Grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les composés de formules (I) et (Ia) tels que décrits ou sous forme de sels ou solvates pharmaceutiques acceptables, peuvent être utilisés comme principes actifs de médicaments pour traiter les tumeurs cancéreuses et leurs métastases.

15

Les composés de formules (I) et (Ia) sont généralement administrés en unités de dosage établies soit par m^2 de surface corporelle, soit par kg de poids. Les dites unités de dosage sont de préférence formulées dans des compositions pharmaceutiques dans lesquelles le principe actif est mélangé avec un (ou plusieurs) excipient(s) pharmaceutique(s).

20

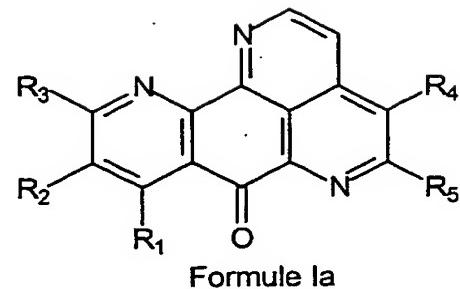
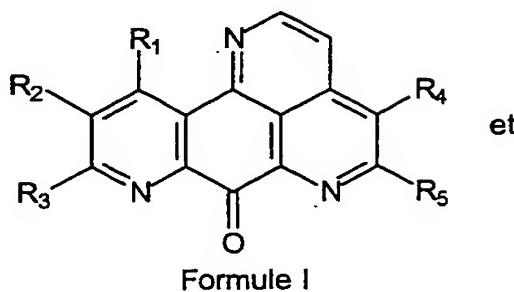
Les composés de formule (I) et (Ia) peuvent être utilisés selon la pathologie cancéreuse du sujet à traiter à des doses comprises entre 0,05 et 350 mg/ m^2 de surface corporelle, de préférence à des doses de 0,5 à 50 mg/ m^2 /jour pour un traitement curatif dans sa phase aiguë en fonction du nombre de cycles de traitement de chaque cure. Pour un traitement d'entretien, on utilisera avantageusement les composés de formules I 25 à des doses de 0,05 à 25 mg/ m^2 /jour, de préférence à des doses de 0,1 à 1,5 mg/ m^2 /jour selon le nombre de cycles de traitement de la cure. Ils pourront être associés aux médicaments anti-tumoraux utilisés dans les protocoles validés de polychimiothérapie intensive.

30

Dans les compositions pharmaceutiques de la présente invention pour l'administration par voie orale, intraveineuse, les principes actifs peuvent être administrés sous formes unitaires d'administration, en mélange avec des supports pharmaceutiques classiques adaptés à la thérapeutique humaine. Les formes unitaires d'administration appropriées comprennent les formes par voie orale telles que les comprimés, éventuellement sécables, ou les gélules, les implants et les formes 35 d'administration intraveineuse.

REVENDICATIONS

1 - Composés de formule :



5

dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -CHO, -OR, -COOH, -CN, -CO₂R, -CONHR, -CONRR', -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, morpholino, nitro, SO₃H et



10

R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆ et Ar étant un groupe aryle en C₆-C₁₄,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

15 2 - Composés selon la revendication 1 qui sont des composés de formule (I) dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -OR, NO₂, -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆,

20 et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

3 - Composés selon la revendication 2 qui sont des composés de formule (I) dans laquelle :

R₁ est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes hydroxy, méthoxy, nitro, -NH₂, -NHCH₃, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOCH₃,

R₂, R₃, et R₅ sont l'hydrogène,

R₄ est un groupe méthoxy,

5 et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

4- Composés selon la revendication 1 qui sont des composés de formule (Ia) dans laquelle :

R₁, R₂, R₃, R₄ et R₅ sont choisis parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes alkyle en C₁-C₆, hydroxy, -OR, NO₂, -NH₂, -NHR, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOR, R et R' étant choisis parmi les groupes alkyle en C₁-C₆,

et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

5 - Composés selon la revendication 4 qui sont des composés de formule (Ia) dans laquelle :

R₁ est choisi parmi l'hydrogène, les halogènes, les groupes hydroxy, méthoxy, nitro, -NH₂, -NHCH₃, -NH-CH₂-CH₂-N(CH₃)₂, -NHCOCH₃,

R₂, R₃, et R₅ sont l'hydrogène,

R₄ est un groupe méthoxy,

20 et les sels d'addition de ces composés avec des acides pharmaceutiquement acceptables.

6 - Composition pharmaceutique comprenant une quantité efficace d'un composé choisi parmi les composés de formule (I) et (Ia) selon l'une quelconque des revendications 1, 2, 3, 4 et 5, pour traiter, grâce à leurs propriétés cytotoxiques, les tumeurs cancéreuses et leurs métastases.

7 - Utilisation des composés tel que défini dans les revendications 1, 2, 3, 4 et 5 pour la fabrication d'un médicament anticancéreux.

30

8 - Procédé de préparation de composés selon la revendication 1 qui consiste à faire réagir selon une réaction d'hétéro Diels-Alder une quinoléine dione de formule :

